

This Page Is Inserted by IFW Operations
and is not a part of the Official Record

BEST AVAILABLE IMAGES

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images may include (but are not limited to):

- BLACK BORDERS
- TEXT CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES
- FADED TEXT
- ILLEGIBLE TEXT
- SKEWED/SLANTED IMAGES
- COLORED PHOTOS
- BLACK OR VERY BLACK AND WHITE DARK PHOTOS
- GRAY SCALE DOCUMENTS

IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.

**As rescanning documents *will not* correct images,
please do not report the images to the
Image Problem Mailbox.**

① RÉPUBLIQUE FRANÇAISE
INSTITUT NATIONAL
DE LA PROPRIÉTÉ INDUSTRIELLE
PARIS

⑪ N° de publication :
(à n'utiliser que pour les
commandes de reproduction)

2 693 108

⑫ N° d'enregistrement national :

92 06954

⑤ Int Cl⁵ : A 61 L 17/00

⑫

DEMANDE DE BREVET D'INVENTION

A1

② Date de dépôt : 10.06.92.

③ Priorité :

⑦ Demandeur(s) : *HEXABIO (S.A.)* — FR.

⑦ Inventeur(s) : Poustis Joël.

④ Date de la mise à disposition du public de la
demande : 07.01.94 Bulletin 94/01.

⑥ Liste des documents cités dans le rapport de
recherche préliminaire : *Ce dernier n'a pas été
établi à la date de publication de la demande.*

⑥ Références à d'autres documents nationaux
apparentés :

⑦ Titulaire(s) :

⑦ Mandataire : Muller René.

⑤ Matériau chirurgical résorbable en particulier fil de suture résorbable.

⑦ L'invention concerne un matériau chirurgical résorba-
ble notamment un fil de suture, formé d'au moins un fil de
cellulose régénérée sur lequel sont fixées des enzymes su-
ceptibles de le dégrader dans les conditions de milieu du
corps humain ou animal.

FR 2 693 108 - A1



MATERIAU CHIRURGICAL RESORBABLE EN PARTICULIER FIL DE SUTURE RESORBABLE

La présente invention concerne un matériau chirurgical résorbable, notamment un nouveau fil de suture résorbable.

Les fils de suture résorbables sont utilisés couramment en médecine et en chirurgie, en particulier lorsque l'ablation des fils est impossible sans ouverture et que la persistance de fils non résorbables pourrait entraîner des troubles.

Les fils résorbables doivent présenter une bonne résistance mécanique à l'état sec et à l'état humide, une bonne élasticité et un ensemble d'autres propriétés et notamment une concordance des durées de destruction biologique avec les durées de cicatrisation, une absence de réactions allergiques et inflammatoires lors de la suture et dans la période de dissolution complète du matériau de suture. Le choix du fil pour le chirurgien est donc fonction de la suture à réaliser et du lieu de l'implantation.

En tant que fils de suture, on utilise encore actuellement du catgut qui est constitué de fibres de collagène obtenues par câblage de lanières des sous-muqueuses ou musculaires d'animaux. La durée de résorption du catgut est plus ou moins longue selon le traitement chimique que l'on fait subir au fil. Cette durée peut ainsi passer de 20 jours à 60 jours pour un traitement utilisant un procédé de tannage aux sels de chrome, la résorption du catgut se faisant dans le corps humain par protéolyse. Un des inconvénients de ce fil de suture est qu'il peut exercer un effet allergisant provoquant une réaction inflammatoire dans les tissus biologiques, ce qui conduit à la formation d'une cicatrice épaisse.

On préfère utiliser aujourd'hui des fils synthétiques, notamment des fils tressés à base d'acide polyglycolique et/ou d'acide polylactique, ces deux composants étant des métabolites physiologiques et leurs fils étant généralement bien tolérés par l'organisme. La dégradation des fils se fait suivant le mécanisme de l'hydrolyse par les liquides physiologiques. Du point de vue mécanique, ces fils conservent environ 60 % de leur résistance initiale après 15 jours d'implantation. La perte totale de la résistance se fait après un mois d'implantation environ.

Afin d'accélérer le processus de résorption, les fils à base de polymères ou copolymères glycoliques et lactiques peuvent être traités notamment par un rayonnement ionisant qui provoque une consolidation de leur structure.

On connaît aussi le monofil ou monofilament résorbable de synthèse, à base de polyester polydioxanone, dont la surface très lisse permet une bonne fluidité à travers

les tissus. Cependant sa rigidité leur confère une maniabilité inférieure à celle des fils tressés. La résorption par hydrolyse est plus lente que pour les fils tressés à base d'acide polylactique et polyglucolique.

On connaît encore d'autres monofilaments synthétiques résorbables, notamment ceux à base d'un acide polyglycolique modifié ou polygluconate.

Ces fils synthétiques qui présentent des qualités techniques et mécaniques supérieures à celles du catgut, telles que solidité à la rupture, souplesse, tenue de noeud, régularité, peuvent encore cependant provoquer des réactions inflammatoires. En outre, leurs produits de décomposition peuvent être difficilement éliminés par les cellules, le sang et les reins.

Un autre inconvénient de ces fils synthétiques et qu'à chaque famille de types de fils correspond généralement une durée de résorption donnée, c'est à dire que pour chaque intervention différente il faut utiliser un fil de comportement et de manipulation différents.

L'invention obvie aux inconvénients cités. Elle propose un nouveau matériau résorbable notamment sous forme d'au moins un fil résorbable à base de cellulose régénérée.

Le matériau résorbable selon l'invention, notamment en forme de fil est un matériau à base de cellulose régénérée obtenue selon le procédé viscosc ou tout autre procédé de synthèse de la cellulose régénérée, matériau sur lequel sont fixées des enzymes susceptibles de le dégrader dans des conditions de milieu et de durée déterminées, en particulier dans les conditions de milieu du corps humain ou animal.

Sous un des aspects de l'invention, le fil à base de cellulose régénérée, est un fil sur lequel est fixé des cellulases. Ces cellulases peuvent être de plusieurs types selon leurs activités enzymatiques : les endoglucanases (activité C_x (CMC), les exoglucanases (activité C_1 (AVICEL)), les β -glucosidases. Ces enzymes sont susceptibles d'hydrolyser la cellulose avec une vitesse d'autant plus grande que les deux activités C_x et C_1 ou les trois activités ci-dessus sont présentes.

Cette vitesse de dégradation du fil de cellulose régénérée est aussi fonction de la concentration enzymatique utilisée lors du traitement du fil afin d'y fixer les enzymes.

Cette vitesse de dégradation dépend aussi du choix de l'enzyme et de son activité en fonction du pH du milieu.

Ainsi par la sélection de la cellulase en fonction de ses activités, notamment selon ses activités liées au pH, et par la concentration enzymatique utilisée pour l'adsorption des enzymes sur le fil, on peut aussi préparer des fils résorbables dont la durée de résorption est modulable.

En outre un même fil de suture pourra être utilisé dans des applications différentes selon le lieu d'implantation et son pH.

L'invention concerne également un procédé de fabrication du matériau résorbable et en particulier du fil de suture résorbable porteur de cellulase.

5 Ce procédé consiste à fabriquer des fils de cellulose régénérée par utilisation du procédé viscose comprenant la suite des opérations suivantes :

- on prépare de l'alcali-cellulose à partir de pâtes de bois, par l'action du sulfure de carbone sur l'alcali-cellulose on obtient du xanthate de cellulose,
- 10 • on dilue le xanthate par de la soude pour obtenir la solution de viscose,
- la solution est filée par passage dans des filières plongées dans un bain d'une solution de soude et d'acide sulfurique,
- les fils obtenus sont ensuite soumis à un traitement de désulfuration par action de solutions chimiques telles que le sulfure de sodium, le sulfite de sodium, le carbonate de sodium ou le phosphate trisodique,
- 15 • les fils sont ensuite lavés.

Le traitement de désulfuration et les lavages peuvent avantageusement être alternés afin d'améliorer l'efficacité de l'élimination du soufre.

20 Les fils de cellulose régénérée sont ensuite traités à l'aide d'une composition enzymatique en vue d'une adsorption desdites enzymes par les fils et dans des conditions telles qu'il n'y ait pas activation du système enzymatique afin de ne pas altérer les propriétés mécaniques des fils de cellulose avant usage. Ce n'est qu'après l'implantation dans le milieu physiologique humain ou animal que la température et le pH vont activer les enzymes qui vont alors dégrader le fil selon le processus désiré.

25 L'adsorption des enzymes par le fil de cellulose régénérée est influencée par différents paramètres qui sont notamment : la concentration en enzymes de la solution de traitement, le temps de contact fil-enzyme, le pH, la composition du milieu, la température, les propriétés physiques de l'enzyme, la surface libre du fil.

30 Ainsi plus la concentration en enzyme augmente, plus la quantité d'enzymes adsorbées est importante, cette quantité correspond à environ 20 % des enzymes contenues dans la solution enzymatique, la limite étant toutefois la saturation du substrat.

L'adsorption est un phénomène relativement rapide : dans la plupart des cas, la majorité des enzymes est adsorbée après quelques minutes de contact.

35 La zone de pH correspondant à une adsorption efficace et maximale dépend de la nature de l'enzyme et aussi des éventuelles charges présentées par le support.

En général l'adsorption est maximale au voisinage du point isoélectrique de l'enzyme. Cette adsorption dépend encore de la composition du milieu et par

exemple, l'addition de composés diminuant la solubilité de l'enzyme dans la phase aqueuse favorise son adsorption.

Un accroissement de la température se traduit par deux phénomènes qui vont influencer l'adsorption de l'enzyme : une augmentation de la diffusion qui entraîne une vitesse d'adsorption plus grande, un déploiement partiel de la structure dimensionnelle de la molécule enzymatique : ce changement de configuration favorise l'établissement des interactions enzymes support :

Après adsorption des enzymes par les fils de cellulose régénérée, les fils porteurs d'enzymes sont séchés, de préférence par lyophilisation afin de ne pas dégrader les activités des enzymes.

Les fils séchés sont ensuite stérilisés de manière avantageuse en étant soumis à une irradiation par rayons γ .

Pour que le fil selon l'invention soit résorbable, il faut qu'avant son implantation les enzymes restent fixées sur le fil et qu'elles conservent leurs activités.

On a observé selon l'invention que le maintien des enzymes sur le fil dépendait des conditions d'adsorption et que pour une même enzyme, ce maintien dépend du pH et de la température du milieu de l'adsorption.

En fait, pour chaque type d'enzyme, il existe des conditions d'adsorption optimales qui permettent d'adsorber la plus grande quantité d'enzymes stables.

Ainsi dans le cas de l'utilisation d'une préparation enzymatique de cellulase contenant environ 30 à 40 % en poids d'endoglucanases, 50 à 60 % en poids d'exoglucanases et 1 % en poids de β -glucosidases, les conditions d'une bonne adsorption sont une température comprise entre 0 et 10°C et un pH compris entre 4 et 6, l'adsorption optimale s'opérant à une température de 4°C environ et à un pH de 5.

Les dimensions du fil de suture selon l'invention peuvent être très variables : le diamètre pouvant être compris notamment entre 20 μm et 100 μm , selon l'application envisagée.

Le matériau chirurgical résorbable selon l'invention peut se présenter sous la forme d'un monofil ou en variante sous la forme d'un fil formé de plusieurs monofils tressés. Le matériau peut aussi se présenter sous une forme différente obtenue à partir de fils enchevêtrés ou tissés pour constituer une compresse par exemple.

Le matériau résorbable selon l'invention peut en outre posséder une coloration particulière qui a pour objet de faciliter l'usage de ce fil lors des interventions cliniques par le fait qu'il est plus facilement repérable. Cependant, une des particularités de cette coloration est qu'elle ne doit pas laisser de traces lorsque le fil est totalement résorbé.

On entend par coloration, l'utilisation d'un colorant agréé par la FDA (Food Drug Association), c'est à dire le colorant D & C violet CI 60725 commercialisé par la Société BAYER/DUPONT. La dose maximale de ce colorant par exemple est au plus de 0,5 % en poids du fil sur lequel il sera fixé.

5 D'autres avantages et caractéristiques de l'invention apparaîtront dans la description suivante, d'exemples de fabrication des fils résorbables selon l'invention.

Exemple 1

10 Par le procédé viscosé de fabrication de la cellulose régénérée, on prépare une solution de viscosé que l'on file pour obtenir un fil de cellulose de 42 μm de diamètre.

Le fil obtenu est traité à l'aide d'une préparation enzymatique en étant placé dans une solution aqueuse d'une préparation enzymatique à base de cellulases contenant environ 30 à 40 % en poids d'endoglucanases, 50 à 60 % en poids d'exoglucanases et 1 % en poids de β -glucosidases. Cette préparation enzymatique est commercialisée par BIOPULP INTERNATIONAL sous l'appellation LIFTASE A40 R. La concentration en préparation enzymatique de la solution aqueuse de traitement est de $2 \cdot 10^{-3}$ litre par litre de solution.

20 L'adsorption s'effectue à une température de 4°C et à un pH de 5, ce pH étant ajusté par addition d'acide sulfurique.

Le fil de cellulose régénérée est placé dans la solution aqueuse d'enzyme à raison de 10 g de fil par litre de solution aqueuse d'enzymes. Le temps de contact fil/solution est fixé à 30 minutes de manière à s'assurer d'une adsorption maximale.

Le fil est ensuite retiré de la solution aqueuse enzymatique et il est séché par lyophilisation.

25 Le fil est ensuite stérilisé par irradiation aux rayons γ en étant soumis à une dose de 25 Mrad. Le fil peut être conservé à une température inférieure à 10°C sans que l'on observe de dégradation.

Exemples 2 et 3

30 On opère comme dans l'exemple 1 sauf que les fils de départ, avant traitement par les enzymes, présentent un diamètre de 78 μm et 98 μm respectivement.

Exemples 4 à 6

35 On opère comme dans les exemples 1, 2 et 3 sauf qu'on effectue l'adsorption des enzymes par immersion des fils dans une solution aqueuse présentant une concentration en préparation enzymatique de $5 \cdot 10^{-3}$ litre de Liftase A40 par litre de solution.

Exemples 7 à 9

On opère comme dans les exemples 1 à 3, sauf qu'on effectue l'adsorption des enzymes par immersion des fils dans une solution aqueuse présentant une

concentration en préparation enzymatique de 10^{-2} litre de Liftase A40 par litre de solution.

Exemple 10 à 12

5 On opère comme dans les exemples 7 à 9, sauf que la concentration est de $4 \cdot 10^{-2}$ litre d'enzymes par litre de solution.

Les fils préparés selon les exemples 1 à 12 sont soumis à des essais de résistance mécanique suivant le protocole décrit dans la monographie de la Commission Européenne de Pharmacopée relative aux fils résorbables synthétiques.

10 : Des essais de résistance aux noeuds sont effectués dans les conditions suivantes :

- matériel utilisé : machine à traction ADAMEL LHOMARGY, modèle DY 15,

- vitesse de la traverse mobile : 250 mm/min
- 15 • longueur initiale des fils comprise entre 12 et 20 cm
- un noeud simple est effectué au milieu de chaque fil

Les paramètres mesurés sont la contrainte à la rupture (σ_r) et l'allongement à la rupture (ε_r) .

20 Les valeurs σ_r et ε_r obtenues pour les fils selon les exemples après traitement enzymatique sont identiques à celles obtenues avant ledit traitement. Les valeurs σ_r sont respectivement de 15,4 GPa, 5,6 GPa et 5,0 GPa pour les fils de 42 μ m, 78 μ m et 98 μ m de diamètre, et les valeurs ε_r sont respectivement de 14 %, 30 % et 30,5 %. A titre de comparaison, les valeurs σ_r et ε_r pour un fil Vicryl^R sont de 7,65 GPa et 14 %..

25 Le traitement des fils par les enzymes dans les conditions de l'invention, n'affecte donc pas leurs propriétés mécaniques.

Pour mesurer la cinétique de dégradation des fils dans des conditions proches de celles trouvées dans l'organisme, des fils obtenus selon les exemples 1 à 12 sont placés dans une solution tampon à pH 4,5, formée de 650 ml d'acide acétique 0,1 N et 350 ml d'acétate de sodium 0,1 N par litre de solution.

30 D'autres fils obtenus selon les exemples 1 à 12 sont placés dans une solution tampon à pH 7,4 formée de 393 ml d'hydroxyde de sodium 0,1 N et 250 ml de phosphate monopotassique 0,2 N.

35 Ces deux solutions tampons présentent des conditions proches de celles de l'organisme : les muscles possédant un pH de 4,5 et le sang un pH de 7,4.

On détermine la dégradation des fils par le dosage des sucres réducteurs par le DNS (acide 3,5-dinitrosalicylique). L'hydrolyse de la cellulose produisant des sucres réducteurs (cellobiose et glucose), l'apparition de ces sucres au cours de la dégradation reflète l'activité des enzymes.

Un autre test de dégradation du fil s'effectue par le suivi de l'évolution des propriétés mécaniques du fil.

Les fils sont placés dans les solutions tampon à raison de 10 g de fil par litre de solution.

5 Après 6 jours dans la solution tampon à pH 4,5, la teneur en glucose par litre de solution est d'environ 5 g/l, ce qui montre une dégradation de la moitié des fils pour les fils des exemples 10 à 12, d'environ 1,2 g/l pour les fils des exemples 7 à 9, d'environ 0,6 g/l pour les fils des exemples 4 à 6 et d'environ 0,3 g/l pour les fils des
10 exemples 1 à 3.

Après 6 jours dans la solution tampon à pH 7,4, la teneur en glucose par litre de solution est d'environ 1,6 g/l pour les fils des exemples 10 à 12, d'environ 0,5 g/l pour les fils des exemples 7 à 9, d'environ 0,2 g/l pour les fils des exemples 4 à 6 et d'environ 0,1 g/l pour les fils des exemples 1 à 3.

15 On peut noter des différences importantes pour les dégradations selon qu'on se place à pH 4,5 ou à pH 7,4. Ces différences sont liées aux conditions d'action des enzymes utilisées qui sont plus actives à pH 4,5 qu'à pH 7,4.

Par prélèvement au cours du temps de fils selon l'invention, placés dans deux solutions tampon, on peut mesurer la perte des propriétés mécaniques de ces fils.

20 A pH 4,5 la perte de résistance est très rapide. Pour les fils selon les exemples 10 à 12, la résistance au bout de 4 jours n'est plus que de 10 % de la résistance initiale. Pour les fils selon les exemples 1 à 3 la résistance au bout de 4 jours est encore de 50 %.

A pH 7,4 la perte de résistance est beaucoup plus lente. Ainsi les fils selon les
25 exemples 10 à 12 présentent au bout de 20 jours une résistance correspondant à 80 % de la résistance initiale. Les fils selon les exemples 1 à 3 présentent encore au bout de cette durée une résistance supérieure à 90 % de la résistance initiale.

Ces exemples montrent que l'invention permet d'obtenir des fils résorbables présentant des durées de résorption pouvant être très variées selon l'application à
30 laquelle ils sont destinés, tout en étant de même nature.

5

REVENDEICATIONS

1. Matériau chirurgical résorbable, caractérisé en ce qu'il est formé d'au moins un fil de cellule régénérée sur lequel sont fixées des enzymes susceptibles de le dégrader dans les conditions de milieu du corps humain ou animal.

10 2. Matériau chirurgical résorbable selon la revendication 1, caractérisé en ce que les enzymes sont des cellulases.

3. Matériau chirurgical résorbable selon une des revendications 1 et 2, caractérisé en ce qu'il possède une
15 coloration particulière qui ne laissera pas de traces dans le milieu environnant lorsque la résorbabilité du fil sera réalisé.

4. Matériau chirurgical résorbable selon une des revendications 1 et 3, caractérisé en ce qu'il présente une
20 durée de résorption modulable selon le type et la quantité d'enzymes initialement fixés.

5. Application du matériau chirurgical selon une des revendications 1 à 4, en tant que fil de suture.

6. Procédé de fabrication d'un matériau chirurgical
25 résorbable à base d'au moins un fil de cellulose, caractérisé en ce qu'on prépare un fil de cellulose régénérée par le procédé viscose, on soumet le fil à un traitement à l'aide d'une composition enzymatique en vue d'une adsorption des enzymes par le fil, on sèche le fil et
30 on le stérilise.

7. Procédé selon la revendication 6, caractérisé en ce que l'adsorption est réalisée à une température comprise entre 0 et 10°C et à un pH compris entre 4 et 6.

8. Procédé selon une des revendications 6 à 7,
35 caractérisé en ce qu'on sèche le fil par lyophilisation.

9. Procédé selon une des revendications 6 à 8, caractérisé en ce qu'on stérilise le fil par un traitement aux rayons γ .